

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОЛИАРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕРОДОВ В ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Н.А.Клюев*, Т.С.Чуранова**, Е.И.Соболева*, Е.Я.Мир-Кадырова*, М.Г.Коротков*, С.Г.Дмитриенко**

*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук.
117071, Москва, Ленинский пр., 33

**Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, химический факультет.
000958, Москва, Воробьевы Горы

Клюев Николай Алексеевич – заведующий лабораторией аналитической экотоксикологии Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук (ЛАЗ ИПЭЭ РАН), кандидат химических наук.

Область научных интересов – теоретическая органическая химия, молекулярная масс-спектрометрия, хромато-масс-спектрометрия, аналитические измерения в экологических исследованиях.

Автор более 450 публикаций в отечественных и зарубежных изданиях и около 30 изобретений.

Чуранова Татьяна Сергеевна – аспирантка кафедры аналитической химии МГУ им. М.В. Ломоносова.

Область научных интересов – экологическая химия полиароматических углеводородов.

Автор 2 статей и 2 тезисов.

Соболева Евгения Игоревна – научный сотрудник ЛАЗ ИПЭЭ РАН, кандидат химических наук.

Область научных интересов – аналитическая химия полихлорированных дибензо-п-диоксинов, дибензофуранов и бифенилов.

Автор более 10 статей в отечественных и зарубежных журналах и 15 тезисов докладов.

Мир-Кадырова Елена Якубовна – научный сотрудник ЛАЗ ИПЭЭ РАН, кандидат химических наук. Область научных интересов – аналитическая химия органических поллютантов, химия природных соединений.

Автор более 40 научных статей и тезисов докладов.

Коротков Михаил Геннадьевич – старший научный сотрудник ЛАЗ ИПЭЭ РАН, кандидат биологических наук.

Область научных интересов – аналитические разработки в области высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Автор более 30 научных статей и 15 тезисов докладов.

Дмитриенко Станислава Григорьевна – доцент кафедры аналитической химии МГУ им. М.В. Ломоносова, кандидат химических наук.

Область научных интересов – использование полимерных сорбентов для сорбции органических веществ; аналитическая химия.

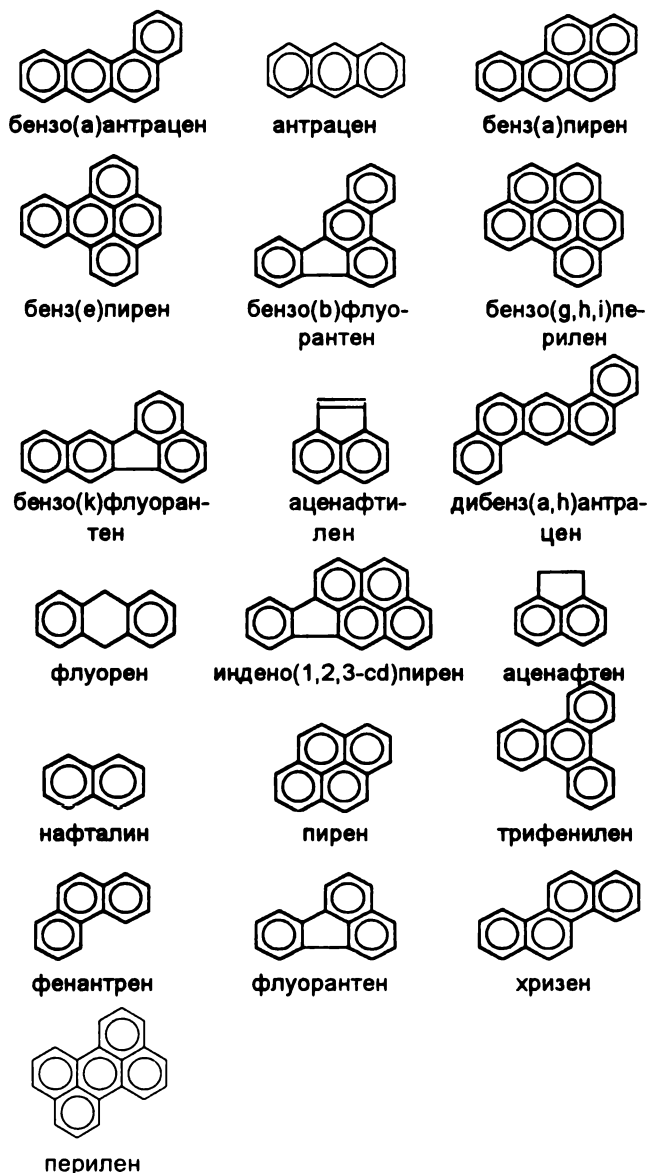
Автор более 50 публикаций в отечественной и зарубежной печати и 25 тезисов докладов.

Полиароматические углеводороды (ПАУ) входят в число наиболее важных антропогенных загрязнителей окружающей среды. Многие из них проявляют мутагенную и/или канцерогенную активность, но в мире нет единых критериев для оценки их опасности. Широкое распространение ПАУ в следовых количествах и их способность накапливаться в окружающей среде вызывает необходимость анализировать разнообразные природные объекты. Методика проведения анализа зависит как от типа объекта, так и от типа требуемой информации.

Представляемый обзор посвящен критическому рассмотрению современных методов определения ПАУ в объектах окружающей среды, включая стадию пробоподготовки.

Развитие человеческой цивилизации в наше время невозможно без технического прогресса, широко развитой промышленности и транспортной сети, приведших к возникновению пробле-

мы загрязнения окружающей среды полиароматическими углеводородами (ПАУ). Под термином ПАУ обычно подразумеваются следующие соединения и их алкил- и арилпроизводные [1]:



ПАУ как поллютанты отличаются высокой устойчивостью к внешним воздействиям и способностью накапливаться в природных матрицах, включая биоту. Особую опасность представляют ПАУ, обладающие мутагенной и канцерогенной активностью, к которым относится, прежде всего, бенз(а)пирен.

Проблема загрязнения окружающей среды ПАУ антропогенного характера носит глобальный характер [2-5]. ПАУ образуются в качестве побочных продуктов при процессах высокотемпературной переработки органического сырья, главным образом, на нефтеперерабатывающих, коксохимических, алюминиевых производствах [6-9]. Одним из основных источников загрязнения ПАУ окружающей среды является автотранспорт [10, 11] – в выхлопных газах автомобилей обнаружено более 150 ПАУ. Значительную роль в образовании ПАУ играют авиация и судоходство.

Из природных источников, создающих фоновый уровень ПАУ, можно отметить их синтез некоторыми растениями и микроорганизмами [12-15], лесные пожары, вулканическую деятельность [12] и метеоритную пыль [16].

Параллельно с накоплением ПАУ идет их дегградация в природе. Первостепенную роль в процессе природного самоочищения от ПАУ играет процесс микробного разложения. В частности, микрофлора сточных вод способна разрушать до 40% ПАУ, в том числе бенз(а)пирен. Известны бактерии, способствующие метаболизму ПАУ в пресных и морских водоемах и в почве [13, 14]. Обмен веществ у некоторых грибов и растений также может приводить к разложению содержащихся в почве ПАУ [17, 18]. Некоторую роль в разрушении ПАУ в условиях чистой атмосферы и при достаточной продолжительности светового дня играет ультрафиолетовое облучение [2, 19, 20].

1. Нормативное регулирование содержания ПАУ

Наличие постоянных источников ПАУ (в частности, только в атмосферу наиболее опасного бенз(а)пирена ежегодно поступает 5 тысяч тонн [5]) обуславливает их накопление в воде, почве, тканях растений и животных. В последнем случае они аккумулируются в жировых тканях, откуда затем поступают в циркулирующую кровь, вызывая изменения органов и тканей [3, 21]. Угрозу для живого организма представляют не только сами ПАУ, обладающие токсичностью, мутагенной и/или канцерогенной активностью, но и продукты их метаболизма, зачастую более опасные, чем исходные соединения [21]. По уровню биологического воздействия на человека ПАУ могут быть отнесены к разряду "суперэкоотоксикантов" [5]. В настоящее время признано недопустимым наличие большинства суперэкоотоксикантов в продуктах питания, воздухе и питьевой воде. Однако полностью избежать этого практически невозможно. Поэтому стоит вопрос об уменьшении риска поражения человека и природы суперэкоотоксикантами [5]. С этой целью были установлены санитарно-гигиенические нормы содержания вредных веществ в различных средах и объектах. Наибольшим канцерогенным действием среди приоритетных ПАУ обладает бенз(а)пирен, внесенный в Международный регистр потенциально токсичных химических веществ. В нашей стране Госэпиднадзором установлены следующие ПДК по бенз(а)пирену [2]:

– 0,15 мкг/м³ аэрозоля бенз(а)пирена в воздухе рабочей зоны;

- 0.1 мкг/м³ в атмосферном воздухе населенных мест (среднесуточная);
- 5 мг/л в воде водоемов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования;
- 20 мкг/кг в почве.

Предложена следующая оценка степени загрязнения почв бенз(а)пиреном [5]:

умеренная	до 20-30 мкг/кг;
значительная	31-100 мкг/кг;
высокая	свыше 100 мкг/кг.

Санэпиднадзором РФ рекомендованы, например, следующие допустимые нормы содержания бенз(а)пирена в таких пищевых продуктах, как:

копченая рыба	0.7-0.8 мкг/кг;
молоко	0.13 мкг/кг;
масло растительное	0.2-10.0 мкг/кг;
хлеб	0.15 мкг/кг;
колбаса твердая копченая	1.1-3.0 мкг/кг;
колбаса вареная	0.4-0.66 мкг/кг;
колбаса копченая	16.5-29.5 мкг/кг;
овощи	0.4-1.1 мкг/кг.

В нашей стране определены ПДК в воздухе рабочих помещений для следующих ПАУ [22]:

нафталин	20 мг/м ³ ;
фенантрен	0.8 мг/м ³ ;
пирен	0.1 мг/м ³ .

Рекомендовано также определять содержание фенантрена и нафталина в воде водоемов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования (ПДК соответственно 0.4 мг/л и 0.05 мг/л). ПДК нафталина для рыбохозяйственных водоемов установлена 0.004 мг/л. Содержание фенантрена в сточных водах предприятий, направляемых на биологическую очистку, не должно превышать 40 мг/л [19].

Следует отметить, что в мире до сих пор не установлены единые критерии оценки опасности канцерогенов и мутагенов. Например, согласно требованиям Агентства по Охране Окружающей Среды США (Environment Protection Agency, EPA US) [23,24] и Списка Приоритетных загрязнителей Европейского Сообщества обязательному определению в воздухе и водах подлежат 16 соединений ряда ПАУ [25]. В то же время в соответствии со Списком Приоритетных загрязнителей вод Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) — всего шесть [25]. При этом ПАУ входят в число показателей качества воды в системе глобального мониторинга [26].

Для оценки опасности канцерогенов в воздухе введена величина фактора риска (вероятность возникновения рака в результате постоянного ингаляционного воздействия в течение более 70

лет при концентрации вещества в воздухе $1 \cdot 10^{-12}$ г/м³), составляющая для бенз(а)пирена 0.07. Факторы риска воздействия остальных приоритетных поллютантов ПАУ предложено определять относительно бенз(а)пирена (табл. 1) [24].

Таблица 1
Эквиваленты токсичности ПАУ относительно бенз(а)пирена

ПАУ	Фактор риска
Бенз(а)пирен	1
Дибенз(а,h)антрацен	
Бензо(j,b)флуорантен	
Бензо(k)флуорантен	0.1
Индено(1,2,3-cd)пирен	
Антрацен	
Хризен	0.01
Бензо(g,h,i)перилен	
Аценафтилен	
Аценафтен	
Флуорен	0.001
Фенантрен	
Флуорантен	
Пирен	

Присутствие ПАУ в разнообразных объектах окружающей среды и их способность аккумулироваться в тканях живых организмов [18,21,27] требует анализа широкого спектра природных матриц — воздух, вода, донные отложения, почва, растительные и животные ткани и секреты, продукты питания. Низкое содержание определяемых веществ и мешающее определению влияние компонентов матрицы требуют применения высокочувствительных и селективных методов анализа в сочетании с предварительной эффективной очисткой и концентрированием определяемых веществ.

Критическому рассмотрению существующих методов детектирования ПАУ в окружающей среде и подготовке проб к аналитическим измерениям посвящена настоящая работа.

2. Подготовка образца объекта окружающей среды для анализа на содержание ПАУ

Стадия предварительной пробоподготовки является не только необходимой процедурой, но от нее часто зависит правильность определения ПАУ в той или иной матрице [8]. Сложность предварительной очистки сильно зависит от типа исследуемого образца. Вода и воздух являются наиболее простыми для анализа объектами, а в

случае жирных биологических матриц приходится проводить длительную многоступенчатую очистку от превосходящего количества органических веществ матрицы [28].

Необходимость предварительной подготовки пробы и правила, которыми следует при этом руководствоваться, определяются природой пробы и свойствами основного вещества пробы, типом требуемой информации, длительностью анализа, а также его характером (качественное или количественное определение) [29-31].

Следует отметить, что в связи с повсеместным распространением ПАУ не существует единой методики для определения их в объектах окружающей среды и, в частности, в пищевых продуктах [32]. Процесс проведения пробоподготовки зависит в большей степени от типа исследуемого объекта и в меньшей – от выбора инструментального метода анализа. Обычно этот процесс состоит из следующих стадий:

1. Отбор пробы и подготовка к выделению.
2. Внесение стандартов.
3. Выделение.
4. Очистка экстракта.
5. Идентификация и количественная оценка содержания ПАУ.

2.1. Отбор пробы и подготовка к выделению

Отбор пробы и подготовка к выделению заключается в измерении количества отобранного материала (взвешивание для твердых проб, измерение объема для жидкостей и газов – непосредственно или вычислением потока, прошедшего через фильтр). Использование фильтров при отборе проб воздуха (а также выхлопных газов, дымов) необходимо потому, что ПАУ содержатся именно на частицах пыли и сажи [33-38]. Из-за низкого содержания ПАУ в воздухе отбор проб производится в течение длительного времени. Так, например, для определения в воздухе рабочих зон антрацена, бензо(а)антрацена, бензо(а, h)антрацена, бензо(г, h, i)перилена, бензо(а)пирена, флуорена, бензо(б)флуорантена, бензо(к)флуорантена и бензо(и)флуорантена методом газовой хроматографии необходимо прокачать через фильтр 600 л воздуха в течение 5 часов; для определения нафталина – соответственно 96 л в течение 8 часов [31]. Для улавливания частиц пыли и копоти, на которых сорбируются ПАУ, чаще всего используют фильтры из стекловолокна фирм Wathman и Sartorius или кварцевую вату. Для улавливания летучих органических соединений – патроны с сорбентами: смола XAD-2, пенополиуретан, различные марки силикагеля, в том

числе химически модифицированного, активированные угли [5, 39, 40]. Иногда используют концентрационные колонки, заполненные сорбентом с нанесенной или химически связанной жидкой фазой, за счет взаимодействия с которой удерживаются ПАУ [41, 42]. Следует отметить, что при отборе проб воздуха необходимо учитывать температуру и влажность воздуха, время года (а иногда и суток), скорость и направление ветра. Анализ воздуха, маркам и составу фильтров и сорбентов, используемым при пробоотборе, посвящены подробные обзоры [43-46].

Процедуры отбора проб воды и воздуха имеют много общего; особенно это касается методов, совмещающих отбор проб и концентрирование. Ввиду своих липофильных свойств ПАУ практически нерастворимы в воде, но задерживаются взвешенными твердыми частицами [39]. Применение фильтров на стадии отбора пробы в этом случае позволяет работать с большими объемами, значительно сокращая затраты на перевозку. Широкое распространение для извлечения из воды следов органических соединений получили смолы XAD, сорбенты с привитыми группами [47, 48] и активированные угли [49-51]. Мицеллярная экстракция неионогенными поверхностно-активными веществами вблизи точки помутнения раствора позволяет не только выделить, но и сконцентрировать в удобной для дальнейшего анализа форме растворенные в воде липофильные соединения, в том числе ПАУ [52]. Предложен также многообещающий метод биомониторинга мутагенов типа бенз(а)пирена и его метаболитов: фталоцианиновые красители, иммобилизованные на магнитных носителях, способны сорбировать из водных сред планарные молекулы ароматических соединений, имеющих в своем составе три и более конденсированных ароматических кольца [53].

Для твердых проб важной стадией пробоподготовки является измельчение (гомогенизация). Иногда проводят высушивание образца – как до гомогенизации (для растений [13], мелких морских организмов [54], почв и донных отложений [55]), так и после [56]. Образцы пищи (особенно жирной и богатой протеинами) часто подвергают гидролизу растворами гидроксидов щелочных металлов [57-61]; иногда этот процесс проводится после экстракции [62].

2.2. Внесение стандартов

Разнообразие образцов окружающей среды, многокомпонентность и непостоянство их состава крайне усложняют процедуру стандартиза-

ции, поэтому чаще всего количественное определение производится методом добавок (или же методом "внесено – найдено"). Внесение стандартов (определенных количеств определяемых веществ) производится после гомогенизации и высушивания (для растений [13], мелких морских организмов [54], молока [63]). В литературе описано применение в качестве внутреннего стандарта радиоактивно меченых ^{14}C бенз(а)пирена [64], флуорена, пирена, нафталина [65], антрацена [66]. При количественном определении ПАУ методом хромато-масс-спектрометрии в образец вводят точное количество изотопно-меченых (обычно ^{13}C) определяемых веществ.

Для этой же цели используют метод внешнего стандарта (построение градуировочного графика), однако первый метод из них предпочтительней, так как сразу позволяет оценить и учесть влияние фона [23].

2.3. Выделение ПАУ

Выделение ПАУ осуществляют экстракцией органическими растворителями (бензол, толуол, ацетон, гексан, циклогексан, пентан, диэтиловый эфир, ацетонитрил, диметилсульфат, хлороформ или их смеси) в аппарате Сокслета [33, 37, 38, 56, 57, 67-69] или на ультразвуковой бане [35, 41, 70]. Иногда для выделения ПАУ пользуются комплексообразующими агентами (кофеин [32] или 2,4,7-тринитро-9-флуорон [57]). Эффективность такой экстракции для приоритетных ПАУ превышает 99% [70].

В случае образцов с невысоким содержанием воды (нефть и продукты ее переработки, отработанные масла [71, 72], предварительно высушенные образцы пищи [73]) добавляют неорганические осушители, обычно сульфат натрия, непосредственно при экстракции.

В последнее время для выделения ПАУ из образцов практически всех типов (частицы дыма [74], осадки [75, 76], почва [77], пищевые продукты [78]) получила распространение суперкритическая флюидная экстракция, эффективность которой сравнима с экстракцией в аппарате Сокслета. Бесспорными достоинствами этого метода является высокая скорость экстракции, чистота применяемых жидких фаз (чаще всего CO_2) и легкость удаления растворителя при низких температурах, что не приводит к потерям и разложению неустойчивых определяемых соединений [78, 79].

Для пищевых продуктов существующие методики характеризуются большим количеством операций и, естественно, длительностью. Напри-

мер, официальная методика Американского Общества Химиков (АОАС) [28] для анализа содержания ПАУ в мясе и сыре предполагает многократную экстракцию после омыления образца, что занимает примерно 24 часа. Стандартная методика Агентства по охране окружающей среды США (EPA) [23] предполагает трехкратную экстракцию хлористым метилом при сильном перемешивании. Ввиду того, что объемы получаемых экстрактов обычно велики, перед очисткой экстракта почти всегда проводят его концентрирование путем упаривания, иногда с заменой растворителя [80-82]. В работе [83] предложена методика определения бенз(а)пирена в пищевых матрицах, разработанная на основе методики изомерно-специфического анализа определения содержания диоксинов [84-86]. Выделение бенз(а)пирена из липофильных матриц проводится путем экстракции смешивающимися с водой растворителями (смесью ацетона и гексана) с последующим высаливанием органических соединений из водной фазы. Отделение и одновременное концентрирование планарных ароматических соединений от остальных органических веществ достигается с помощью микроколони, заполненной активированным углем. Недавно разработана новая методика одновременного определения ПАУ и их азотсодержащих производных в жареном мясе. Выделение определяемых компонентов после гидролиза образца проводят с высокими выходами (более 92 %) при помощи колонки с диатомитом [87].

2.4. Очистка экстракта

Очистка экстракта совершенно необходима при наличии преобладающих веществ матрицы, соэкстрагирующихся с ПАУ и мешающих дальнейшему определению. Варианты очистки экстрактов достаточно разнообразны [38, 58, 60, 70]. Широкое применение для этой цели нашли различные варианты адсорбционной хроматографии. Ранее популярная тонкослойная хроматография на различных носителях [6, 28, 39, 54, 59, 88] в последнее время настойчиво вытесняется колоночной [23, 54, 65, 74, 87] в связи с появлением более высокочувствительных методов анализа. При работе с малыми количествами веществ очень удобны картриджи [67, 86, 89, 90]. Крут используемых сорбентов ограничен. Обычно это сорбенты на основе силикагеля, окиси алюминия и/или их сочетания [91, 92]. Например, все экстракты, полученные при анализе сыра или мяса по официальной методике АОАС, следует четырехкратно промыть теплой водой, каждый

раз отбрасывая водный слой, после чего экстракты в строгой последовательности следует пропустить через колонку, содержащую Florisil, и проводить элюирование бензолом. Для определения всех ПАУ необходимо собрать все жидкие фракции, прошедшие через колонку, а для определения бензо(а)пирена требуется только бензольный элюат. Для очистки метилхлоридного экстракта, получаемого согласно методике EPA [23], первоначально проводят замену растворителя на циклогексан, затем полученный раствор наносят на колонку с предварительно подготовленным силикагелем, промывают колонку пентаном и элюируют смесью пентана с хлористым метилом. При очистке экстракта на Sephadex LH-20 (элюент изопропанол или бензол) происходит отделение ПАУ от неполярных липидов. При повторном хроматографировании элюата на силикагеле или окиси алюминия избавляются от насыщенных углеводов и большинства олефинов, которые элюируются быстрее, а также от большинства полярных веществ, остающихся на колонке [57].

Для проведения экологического мониторинга, а также скрининга, существуют простые и быстрые методики определения присутствия ПАУ в пробе. В этом случае нет необходимости в тщательной очистке образца. Оказывается достаточным провести разделение определяемых компонентов тонкослойной хроматографией с последующей идентификацией флуоресцирующих пятен [93].

2.5. Идентификация и количественная оценка содержания ПАУ

Идентификация и количественное определение, а также выбор инструментального метода зависят от цели анализа и возможностей лаборатории. В общем случае можно выделить 3 основных аналитических цели: определение всех имеющихся в образце ПАУ (это наиболее дорогостоящий вариант, часто используемый для мониторинга окружающей среды [35]), определение только канцерогенных ПАУ, содержащих от 3 до 7 конденсированных колец [60,67], и, наконец, определение самого опасного бенз(а)пирена (последними двумя методами особенно часто определяют качество продуктов питания).

3. Методы определения ПАУ

В настоящее время существует несколько способов определения ПАУ в различных природных и химических смесях. Низкие уровни ПДК для ПАУ требуют применения для анализа инстру-

ментальных методов, характеризующихся высокой чувствительностью и селективностью. Этим условиям в полной мере отвечают хроматографические методы и, в частности, хромато-масс-спектрометрия.

3.1. Газовая хроматография

Газовая хроматография для анализа смеси ПАУ впервые была применена в 1964 году [94]. В капиллярном варианте газовой хроматографии наиболее широкое применение получили метилсиликоновые резины с привитыми фенильными группами SE-52 и SE-54 [95-97], отличающиеся высокой селективностью по отношению к ПАУ и достаточной устойчивостью при высоких температурах (используемый диапазон работы колонки от 60 до 300°C).

Индексы удерживания планарных ПАУ на неполярных или слабо полярных фазах, являющиеся логарифмической функцией давления пара от точки кипения и молекулярного веса предшественника, могут быть получены экспериментально или путем расчета [98-100].

Идентификация определяемых веществ проводится по индексам удерживания Ковача [37], для чего необходимо проводить калибровку колонки, так как величины индексов зависят от толщины пленки стационарной фазы, длины колонки, температурного режима, скорости газоносителя, инжекционной системы (табл. 2) [100].

При определении ПАУ методом газовой хроматографии чаще всего используется пламенно-ионизационный детектор ввиду универсальности характеристик: диапазон линейности отклика 10^7 , чувствительность -5 пг. Пламенно-ионизационный детектор дает отклик на все вещества, способные гореть с образованием ионов, что может приводить к завышению результатов (например, в случае присутствия в смеси метилового эфира олеиновой кислоты будет завышен результат по определению количества пирена при использовании градиентного температурного режима, благоприятного для определения ПАУ по индексам Ковача). Во избежание этого следует проводить тщательную очистку анализируемой пробы [7].

Детектор с электронным захватом (чувствительность не менее 0,1 пг, линейный динамический диапазон 10^4) селективен на ПАУ в смесях углеводов (его отклик зависит от структуры соединения) и удобен при определении изомеров ПАУ. Применение его затруднено, если в определяемой смеси присутствуют другие электрофильные вещества. Это относится, в первую очередь, к

Таблица 2

Индексы Ковача для некоторых веществ, неподвижная фаза SE-54 [100]

ПАУ	Температура, °C			Подъем температуры от 60 до 300 °C	
	140	220	300	2 °C/мин	8 °C/мин
Нафталин	1219.20	—	—	1176.72	1195.09
Аценафтилин	1466.71	1550.86	—	1438.93	1469.14
Аценафтен	1500.00	1582.31	—	1476.03	1506.09
Флуорен	—	1674.07	—	1573.99	1609.01
Фенантрен	—	1865.98	2000.00	1770.20	1815.60
Антрацен	—	1875.56	2000.00	1780.62	1826.66
Флуорантен	—	2122.43	2271.66	2050.48	2111.55
Пирен	—	2171.77	2334.97	2100.00	2169.39
Бензо(а)антрацен	—	—	2636.18	2437.99	2517.89
Хризен	—	—	2649.47	2449.82	2531.88

часто сопровождающим ПАУ галогенированным ароматическим соединениям [101].

Перспективно использование фотоионизационного детектора, также селективного на ПАУ (диапазон работы 10^7 , чувствительность 2 пг); особый интерес представляет измерение при различных длинах волн.

Масс-спектроскопическое детектирование придает газовой хроматографии качественно новые полезные свойства, и поэтому сочетание этих методов (хромато-масс-спектрометрия) требует отдельного рассмотрения.

3.2. Высокоэффективная жидкостная хроматография

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), как нормально-, так и обращенно-фазовая, широко применяется для разделения ПАУ, а в сочетании с каким-либо видом детектирования – для их окончательного количественного определения [7].

В нормально-фазовой ВЭЖХ в качестве неподвижной фазы наиболее часто используют мелкодисперсные или поверхностно-пористые окись алюминия или силикагель [102]; в качестве подвижных фаз – предельные углеводороды, которые для повышения элюирующих свойств модифицируют активирующими добавками [7]. На сорбционный процесс существенно влияют кислотно-основные взаимодействия. Окись алюминия и силикагель существенно отличаются по своим сорбционным характеристикам благодаря различной кислотности и структуре поверхности. Сорбция ПАУ на окиси алюминия происходит за счет электростатических взаимодействий. Описано также разделение смесей ПАУ на ацетате целлюлозы, полиамиде, макропористом полисти-

роле, сажах, силикагеле, модифицированном пикриновыми кислотами [7].

Однако наибольшую популярность приобрели химически связанные неподвижные фазы. На них выполняется около 80 % всех разделений, проводимых методом ВЭЖХ [7]. В обращенно-фазовом варианте удерживание определяется неполярным неспецифическим взаимодействием сорбат—сорбент и полярным специфическим сорбат—элюент. За счет уникальных свойств и легкой доступности наибольшее распространение получили октадецилсилилановые обращенные фазы. В литературе приведены данные по удерживанию ПАУ на обращенных фазах C_{18} , привитых к силикагелю, поверхностно-пористым материалам, пористому стеклу [7, 71, 103]. В последнее время разрабатываются новые сорбенты, содержащие аналогичные алифатическим октадецильным щеткам полисилоксановые группы с привитыми ароматическими фрагментами [13, 104].

На времена удерживания незамещенных ПАУ и их гомологов существенным образом влияет состав подвижной фазы. Наиболее часто используют смеси метанола с водой и ацетонитрила с водой.

Повышение температуры колонки сужает пики и сокращает время анализа. Использование температурного градиента, как и в газовой хроматографии, позволяет также разделить вещества, выходящие в изократическом режиме одним хроматографическим пиком, поэтому подбор состава подвижной фазы и температурного режима играет важную роль в оптимизации процесса разделения ПАУ.

Известны примеры применения различных типов детекторов, однако наибольшее распрост-

ранение получили ультрафиолетовый и флуоресцентный. Действие ультрафиолетовых детекторов основано на том, что молекулы ароматических соединений, в том числе и ПАУ, эффективно поглощают ультрафиолетовый свет. При использовании ультрафиолетовых детекторов применение ароматических растворителей невозможно. В этих случаях пользуются другими растворителями, поглощение которыми ультрафиолетового света при детектируемых длинах волн минимально. Все 16 приоритетных ПАУ можно успешно детектировать при длине волны 254 нм [70]. Известно множество вариантов ультрафиолетового детектирования, позволяющих повысить порог чувствительности одного или нескольких компонентов, используя детектирование при переменных [105-107] или нескольких длинах волн [108]. Для идентификации ПАУ используют также анализ их полных УФ спектров поглощения, которые снимают после разделения смеси методом ВЭЖХ [109]. В целях многокомпонентного определения успешно использованы быстрое сканирование и многоволновые детекторы с Фурье-преобразованием [110].

Наиболее часто детектирование ПАУ при их разделении методом ВЭЖХ основано на их способности флуоресцировать при облучении ультрафиолетовым светом. Это свойство, как правило, не присуще веществам матрицы и полихлорированным органическим соединениям, часто сопутствующим ПАУ. Флуориметрический детектор селективен по отношению к конденсированным ПАУ [111-114] и обладает высокой чувствительностью. С его помощью можно определять содержание ПАУ менее 0,1 мкг/л [25]. Предел обнаружения можно повысить, используя флуоресценцию, возбуждаемую лазерным излучением. Увеличения чувствительности можно добиться также применением узкополосного фильтра, а для плохо разрешенных пиков – монохроматора [7]. Было проведено определение 17 различных ПАУ в пище, воде и табачном дыме с использованием хроматограмм, полученных при разных длинах волн возбуждения и испускания флуоресценции [111]. Присутствие в анализируемых смесях некоторых веществ (например, нитрометана или кислорода) может привести к селективному гашению флуоресценции некоторых ПАУ [71, 112]. Напротив, добавление флуорофора (анилина) позволяет детектировать не флуоресцирующие ПАУ. Флуориметрический детектор в сочетании с компьютерной техникой и банком данных успешно применяется для анализа сложных смесей [69, 114].

Методом ВЭЖХ с флуоресцентным детектором определяют содержание ПАУ в воде [39, 41, 115], воздухе [33, 38, 46], дымах и выхлопных газах [65, 113]. Разработаны стандартные методики по определению ПАУ методом ВЭЖХ в морских осадках [68], кокосовом масле и зеленом горошке [56]; в рыбьем жире [63].

Широко распространенные методики EPA US [23] рекомендуют отдельно определять нафталин, аценафтилен, аценафтен и флуорен при помощи УФ детектора, а флуориметрический детектор использовать для определения остальных ПАУ.

Сочетание ВЭЖХ с масс-спектроскопическим детектированием обещает, несмотря на сравнительно малое пока число работ в этой области, стать новым мощным методом для анализа органических соединений [116].

3.3. Хромато-масс-спектрометрия

Метод хромато-масс-спектрометрии (ХМС) представляет собой комбинацию метода ГЖХ с масс-спектрометром в качестве детектора, который, как правило, имеет компьютерное обеспечение с программой "библиотечного поиска", позволяющее проводить идентификацию сложных смесей с использованием индексов подобия [116, 117]. Высокая чувствительность, селективность и специфичность такой комбинации методов позволяет определять вещества, находящиеся в следовых количествах, на фоне сотен других, концентрации которых могут быть в тысячи раз больше [117]. За счет более производительной откачки воздуха из такой системы (турбомолекулярные насосы) возможна прямая стыковка капиллярной колонки с масс-спектрометром (без использования сепаратора) без потери чувствительности и разрешающей способности детектора. В такой комбинации корректность идентификации увеличивается за счет использования как хроматографических индексов ($IR, t_{мин}$), так и спектрометрических показателей (идентичность по полному масс-спектру в пределах величины воспроизводимости, многоионное селективное детектирование, постоянство величины отношения интенсивностей характеристических ионов). Это часто позволяет существенно снизить требования к хроматографическому разделению анализируемых смесей и упростить процедуру очистки пробы [118].

Учитывая высокую стабильность конденсированных ароматических соединений к ионизации, можно считать электронный удар наиболее удачным способом ионизации, обеспечивающим наилучшую воспроизводимость результатов из-

мерений по сравнению с другими видами ионизации. В масс-спектрах электронного удара ПАУ всегда дают максимальный по интенсивности пик молекулярного иона (M^+). Их масс-спектры отличаются чрезвычайно селективным характером фрагментации, давая фрагментные ионы, связанные с рандомизационной потерей одного, двух или трех атомов водорода, элиминированием нейтральных частиц ацетилен из указанных ионов – M^+ , $[M-H]^+$, $[M-2H]^+$ и так далее и образованием двузарядных ионов из указанных осколочных ионов (их доля достигает 20 % от полного ионного тока [70, 119-121]).

Для достижения низких пределов детектирования необходимо использовать высокоэффективные хроматографические колонки. Кроме того, оказалось удобным проводить регистрацию M^+ и характеристических ионов определяемых соединений с использованием техники селективного ионного детектирования. Этот метод применим для определения соединений, присутствующих

в сложных смесях в следовых количествах, в частности, при определении токсичных веществ в объектах окружающей среды [119, 122]. Таким образом, идентификацию ПАУ следует вести путем селективного детектирования различных ПАУ по их молекулярным ионам, а лучше по двум ионам для каждого представителя – M^+ и $[M-H]^+$. В этом случае, используя соотношение интенсивностей ионов M^+ , $[M-H]^+$, можно идентифицировать изомеры ПАУ, даже не прибегая к хроматографическим характеристикам.

При ионизации электронным ударом не всегда возможно различить изомеры ПАУ, дающие близкие спектры. В этом случае детектирование ведется по отношению интенсивности пиков ионов M^+ и $[M-1]^+$, а хроматографический контроль осуществляется по временам удерживания. Масс-спектры электронного удара многих ПАУ хорошо изучены и собраны в специальных изданиях. Набор детектируемых ионов для идентификации ПАУ приведен в табл. 3.

Таблица 3

Набор детектируемых ионов для идентификации ПАУ [119]

Соединение	M^+	$[M-1]^+$	$I_{M^+}/I_{[M-1]^+}$	Энергия ионизации, эВ ($\pm 0,02$)
Нафталин	128	127	8.85	8.26
Антрацен	178	177	—	7.55
Фенантрен	178	177	15.38	8.28
Пирен	202	201	6.54	7.41
Флуорантен	202	201	12.05	7.95
Хризен	228	227	9.35	7.59
Бензо(а)антрацен	228	227	20	7.41
Бенз(а)пирен	252	251	12.35	7.12
Бензо(к)флуорантен	252	251	15.39	6.97
Дибензо(а, h)антрацен	278	277	12.35	7.38

Химическая ионизация с использованием метана в качестве газа-реагента приводит к образованию преимущественно ионов $[M+1]^+$ (за счет сродства ароматических соединений к протону) и, в несколько меньшем количестве, к кластеру $[M+29]^+$, что также позволяет в большинстве случаев провести идентификацию изомеров [70, 119]. При этом относительные скорости реакций обмена протоном и зарядом и, следовательно, образование преимущественно молекулярного иона M^+ или иона $[M+1]^+$ находятся в соответствии со сродством соединения к протону и потенциалом ионизации и зависят, таким образом, от структуры молекулы. Различные масс-спектры для антрацена и фенантрена были получены при использовании смеси метана с аргоном [70].

Для молекул, имеющих положительное сродство к электрону, целесообразно использовать химическую ионизацию с ассоциативным захватом электрона, приводящим к образованию отрицательных ионов, несущих информацию о массе молекулы [118, 120]. В этом случае для многих соединений наблюдается увеличение чувствительности ввиду того, что скорость реакций захвата электрона обычно много выше скоростей ионно-молекулярных реакций. В качестве газа-реагента описано применение метана, дейтерированного этанола, а также кислорода для одновременной генерации положительных и отрицательных ионов. Масс-спектры химической ионизации очень сильно зависят от условий эксперимента, вследствие чего они характеризуются пло-

хой воспроизводимостью и поэтому используются редко [70].

Техника с использованием фотоионизации дает "чистые" спектры молекулярных ионов для ароматических соединений. Этот эффект можно использовать и для анализа смесей, в состав которых входят ароматические углеводороды. Однако широкого распространения этот прием в практике не нашел из-за сложности эксперимента (переюстировка прибора) [70].

Хромато-масс-спектрометрия – единственный метод, позволяющий использовать для идентификации и количественных измерений внутренние стандарты [119, 122]. В качестве внутренних стандартов применяют меченые ^2H и ^{13}C изомерные смеси ПАУ. Сдвиг по массе (на число меченых атомов) и тот факт, что вещества-стандарты имеют практически одинаковые с немечеными ПАУ хроматографические характеристики (времена удерживания), обуславливают легкую идентификацию. Количество определяемых ПАУ легко рассчитывается по площади пика стандарта.

К числу успешно анализируемых с помощью хромато-масс-спектрометрии относятся объекты окружающей среды [36], образцы пищи, биологической ткани, предметы исследования криминалистики и медицины [120]. Этим методом было определено содержание ПАУ в табачном дыму [113], он используется в разных странах для мониторинга воздушного бассейна городов [120].

Метод ХМС имеет неоспоримые достоинства и получил широкое распространение как доминирующий в эколого-аналитическом контроле. Однако он остается дорогим и поэтому не всегда доступным методом анализа. Цены на ХМС приборы (квадрупольные и типа "ионной ловушки") приближаются к ценам на приборы ГЖХ с различным набором детекторов. Сдерживающим фактором применения метода в нашей стране является не только отсутствие производства приборов, но и недостаток подготовленных кадров.

3.4. Эффект Шпольского

Для исследования полиароматических углеводородов широкое распространение получил метод тонкоструктурной люминесцентной спектроскопии, основанный на эффекте, открытом Шпольским с сотрудниками [123]. Суть эффекта заключается в том, что при низких температурах молекулы некоторых сложных органических веществ, внедренных в кристаллическую матрицу нормальных парафинов, дают квазилинейчатые спектры люминесценции высокого разреше-

ния (вместо размытых диффузных полос при комнатной температуре) [124]. Использование этого эффекта для аналитических целей дает высокую селективность и чувствительность, удовлетворяющую требованиям для определения ПАУ [125]. Большое значение при этом имеет выбор оптимальной концентрации исследуемого вещества в растворе. Квазилинейчатый характер имеют спектры примесных молекул при концентрации от 10^{-5} до 10^{-9} моль/л [126]. Увеличение концентрации растворов приводит к уширению и размытию квази-линий, по которым нельзя уверенно идентифицировать индивидуальные соединения. Несомненным достоинством метода является невысокая требовательность к степени очистки, обуславливающая экспрессность и широкое применение метода Шпольского для определения содержания ПАУ в различных объектах окружающей среды: аэрозолях воздушных масс [127], воде [54], почве и донных отложениях [127], растениях [13], морских микроорганизмах [54], отработанных маслах, нефти и масляных загрязнениях [72], продуктах питания [128]. Метод Шпольского дает хорошие результаты для определения бенз(а)пирена, но определение других ПАУ не всегда возможно ввиду слабых или неудовлетворительно суженных линий люминесценции [54, 127]. Повысить качество определений можно использованием лазера в качестве источника возбуждения флуоресценции, что приводит к возникновению в спектре очень узких линий [5]. Следует отметить, что сложность требуемой аппаратуры является существенным ограничением в распространении этого метода.

3.5. Новые методы определения ПАУ

Как обсуждалось выше, отличительной чертой ПАУ является их способность флуоресцировать под действием УФ или лазерного излучения. В последнее время в связи с развитием техники стало возможным проводить определение ПАУ в сложной смеси без предварительного разделения на основе широкомасштабных спектров их флуоресценции [129]. Создан действующий по этому же принципу оптико-волоконный сенсор для определения ПАУ с тремя-пятью конденсированными кольцами. Флуоресценцию этих ПАУ возбуждают лазерным излучением [130]. Методом синхронной съемки спектров флуоресценции было определено содержание 6 приоритетных ПАУ в воде [131].

Среди новых хроматографических методов заслуживает внимания сверхкритическая флюидная хроматография [132].

Определенный интерес вызывает способ определения некоторых ПАУ в водных и спиртовых растворах при помощи биохимического сенсора ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) [133].

Заключение

Обобщение данных по проведению аналитических измерений полиароматических углеводородов в природных объектах, включая биоту и пищевые продукты, свидетельствует об отсутствии единой унифицированной методики подготовки проб к анализу. Именно стадия пробоподготовки определяет выбор метода детектирования ПАУ и определяет временные и расходные затраты (количество и число растворителей, их чистоту, ассортимент сорбентов).

ЛИТЕРАТУРА

1. Tocoen (Toxic Organic Compounds in the Environment). Brno. April 28 - May 3. 1996. P.18-21
2. Программа ООН по окружающей среде. Международный регистр потенциально токсичных химических веществ. Бенз(а)пирен / Центр международных проектов ГКНТ. Москва, 1983. 33 с.
3. Harvey R.G. Polycyclic aromatic hydrocarbons: chemistry and carcinogenicity / Cambridge University Press. Cambridge. 1991. 385 p.
4. Ровинский Ф.Я., Теплицкая Т.А., Алексеева Т.А. Фоновый мониторинг полициклических ароматических углеводородов. Л.: Гидрометеиздат. 1988. 223 с.
5. Майстренко В.Н., Хамитов Р.З., Будников Г.К. Эколого-аналитический мониторинг суперэкоотоксикантов. М.: Химия. 1996. 319 с.
6. Jacob J. The significance of PAH as environmental carcinogens // Pure Appl. Chem. 1996. V.68, № 2. P.301-308.
7. Дмитриков В.П., Ларионова О.Г., Набивач В.М. Анализ полициклических ароматических углеводородов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Успехи химии. 1987. Т.56, № 4. С.679-700.
8. Yu-Ling W., Jen-Ho L. Formation of priority PAHs from polystyrene pyrolysis with addition of calcium oxide // Sci. Total Environ. 1998. V.212. P.173-181.
9. Прохорова Е.К. Анализ воздуха рабочей зоны // ЖАХ. 1997. Т.52, № 7. С.678-685.
10. Cotham W.E., Bidleman T.F. PAHs and PCBs in Air at an Urban and Arural Site near Lake Michigan // Environ. Sci. Technol. 1995. V.29. P.2782-2789.
11. Harrison R.M., Smith D.J.T., Luhana L. Source of atmospheric PAH collected from an urban location in Birmingham U.K. // Environ. Sci. Technol. 1996. V.30. P.825-831.
12. Филов В.А., Худолей В.В. Химические канцерогены в окружающей среде и их экологическое значение // Журн.эколог.химии. 1993. Т.2, № 4. С.313-318.
13. Šebor G., Mitera J. Determination of toxic organic compound in water. I. Polyaromatic hydrocarbons // Sbornik F27. Vysoke Lkoly Chemicko-technologicke v Praze F27. 1998. P.125-157.
14. Collins P.J., Kotterman M.J.J., Field J.A., Dobson A.D.W. Ozidation of anthracene and bonzo[a]pyrene by laccases from *Trametes versicolor* // Appl. environ. microbiol. 1996. V.62, № 2. P.4563-4567.
15. Результаты наблюдений за фоновым загрязнением природных сред хлорорганическими пестицидами и бенз(а)пиреном на территории восточноевропейских стран / Ровинский Ф.Я., Афанасьев М.И., Буйволов Ю.А., Вулых Н.Л., Загружина А.Н. // Журн. эколог. химии. 1992. Т.1. С.46-64.
16. Быкорез А.И., Рубинчик Б.А. Онкологическая экология и ее задачи. // Экология и рак: Сб.стат.. Киев: Наукова думка, 1985. С.3-22.
17. Ирха Н.И., Кирсо У.Э. Роль водорослей в самоочищении водоемов от канцерогенных полициклических органических соединений // Журн. эколог. химии. 1992. Т.2, № 1. С. 27-33.
18. Biodegradation of [¹⁴C] benzo[a]pyrene added in grande oil to unconta-minated soil / Kanaly R., Bartha R., Folgel S., Finfly M. // Appl. Environ. Microbiol. 1997. V.63, № 11. P.4511-4515.
19. Грушко Я.М. Вредные органические соединения в промышленных сточных водах. Л.: Химия, 1982. 214 с.
20. Chemical Analysis of Polycyclic Aromatic Compounds. (Ed. T. Vo-Dinh). Wiley, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore. 1983. 57 p.
21. Fawell J.K., Hunt S. Environmental toxicology: Organic pollutants. Wiley, Chichester. 1985. 315 p.
22. Вредные вещества в промышленности. Т.1 / Под ред. Н.В.Лазарева, Э.Н.Левиной). Л.: Химия. 1976. 246 с.
23. EPA Test Method. Polynuclear Aromatic Hydrocarbons – Method 610. US EPA, 1982; Method 8100 US EPA 1986; Method 8310 US EPA 1988 Cincinnati OH 45268.
24. Spindler E.-J. What the important carcinogenic substances in soot //Organohalogen compounds 1996. V.30. P.7-11.
25. Сониясси Р., Сандра П., Шлетт К. Анализ воды: ор-ганические микропримеси. СПб:Теза, 1995. 248 с. (R.Soniassy, P.Sandra, C.Schlett. Water analysis. Organic Micropollutant. Hewlett Packard, Germany, 1994.)
26. Богдановский Г.А. Химическая экология. М.: МГУ. 1994. 126 с.
27. Худолей В.В., Филов В.А. Проблема онкоэкологического мониторинга // Журн. эколог. химии. 1993. Т.3, № 1. С.73-78.
28. PAHs in seafood from the Gulf of Alaska following a major grude oil spill / Saxton W.L., Newton R.T., Rorleg J.,

- Sutton J., Johnson L.E. // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 1993. V.51, № 4. P. 515-522.
29. Зенкевич И.Г. Проблемы идентификации органических соединений в разведочных и подтверждающих экоаналитических исследованиях. // *Журн. эколог. химии*, 1993. Т.2, № 4. С.287-293.
30. Крылов А.И. Хроматографический анализ в экологической экспертизе // *Журн. аналит. химии*. 1995. Т.50. С.230 – 235
31. Дженнингс В., Рапп А. Подготовка образцов для газохромато-графического анализа. М.:Мир, 1986. 231 с. (G.Jennings, A.Rapp. Sample preparation for gas chromatographic analysis. Dr. Alfred Hüting Verlag, Heidelberg. 1986)
32. Reference materials for PAHs in foodstuffs: results of the certification exercise of two coconut oil reference material / Win T., Luther W., Jacob J., Vaessen H.A.M.G., Boenke A.//*Fres. J.Anal. Chem.* 1998. V.360. P.640-644.
33. PAHs in laurus nobilis leaves as a measure of air pollution in urban and rural sites of Tuscany / Lodovici M., Akpan V., Casalini Ch., Zappa C., Dalara P.// *Chemosphere*. 1998. V.36, № 8. P.1703-1712.
34. Нейман Е.Я., Меркушев И.А., Сотсков Ю.П. Роль аналитической информации в решении экологических проблем. // *Журн. эколог. химии*. 1993. Т.2, № 4. С.351-358.
35. Robertson D.J., Elwood J.H., Groth R.H. Chemical composition of exhaust particles from gas turbine engines // *EPA 68-02-2458*. 1979.
36. Comparison of extraction methods for the determination of PAHs in soot samples / Claessens H.A., Rhemrev M.M., Wevera J.R., Janssen A.A.J., Brasser L.J. // *Chromatographia*. 1991. V.31. P.569-574.
37. Extraction of PAHs from highly contaminated soils using microwave energy / Barnabas I.J., Dean J.R., Fowles I.A., Owen S.P. // *Analyst*. 1995. V.120, № 7. P.1897-1909.
38. Grimmer G., Bohnke H. Separation and identification of organic compounds in air particulate extracts by high-performance liquid chromatography // *J. Chromatogr.* 1987. V.398. P.227-237
39. Analysis of trace PAHs and organochlorine compounds in atmospheric residues by solid-phase disk extraction / Carrera G., Fernandez P., Vilanova R., Grimalt J.O. // *J. Chromatogr.* 1998. V.823. P.189-196.
40. On-line preconcentration and high-performance liquid chromatographic determination of PAH-DNA adducts using copper phthalocyanine trisulfonic acid / Bommel M.R., de Long A.P.L.M., Tjaden U.R., Irth H., van der Greef J.//*J. chromatogr. A*. 1996. V.755. P.205-210
41. Messer D.C., Taulor L.T. Method development for quantitation of trace PAHs in metered dose inhaler drug formulations by isotope dilution//*J. Pharm. Biomed. Anal.* 1995. V.13. P.293-304.
42. Shamsi s.A., Akbay C., Warner I.M. Polymeric anionic surfactant of electrokinetic chromatography separation of 16 priority PAH pollutants // *Anal. chem.* 1998. V.70. P.3078-3081.
43. Camel V., Caude M. Trace enrichment methods for the determination of organic pollutants in ambient air. // *J. Chromatogr. A*. 1996. V.710. P.3-19.
44. Peltonen K., Kuljukka T. Air sampling and analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons. // *J. Chromatogr. A*. 1996. V. 710. P.93-108.
45. Pilot study: PAH fingerprints of aircraft exhaust in comparison with diesel engine exhaust / Krahle-J., Seodel H., Jeberien H.E., Rückert M., Bahadir M. // *Fres. J. Anal. chem.* 1998. V.360. P.693-696.
46. Lee H. K. Recent applications of gas and high-performance liquid chromatographic techniques to the analysis of PAH // *J. Chromatogr. A*. 1996. V.710. P.79-92.
47. The "Priority pollutants" analysis in water / Lautamo R.M.A., Decker D., Jennings W., Mehran M.F.// *Chromatographia*. 1992. V.34. P.331-334.
48. An evaluation of solid-phase microextraction for analysis of volatile organic compounds in drinking water / Nilsson T., Pelusio F., Montanarella L., Larsen B., Facchetti S., Madsen J.O. // *J. High. Resolut. Chromatogr.* 1995. V.18. P.617-624.
49. Fisher S.J., Alexander R., Kagi R.I. Size-exclusion chromatography on carbons and zeolites in the trace analysis of PAHs and organochlorine pesticides. // *J. Chromatogr.* 1993. V.642, № 1-2. P.205-209.
50. Полициклические углеводороды в дунайской воде / Коротков М.Г., Н.А. Ключев, Тарасова О.Г., Муренец Н.В., Цветкова А.М. // *Гидробиол. журнал*. 1992. Т.28. С.88-92.
51. Крылов А.И., Костюк И.О., Волюнец Н.Ф. Определение полиароматических углеводородов в воде методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с концентрированием на ХАД-2. // *Журн. аналит. химии*. 1995. Т.50. С.543-548.
52. Вцкелен А., Niessner R. Euroanalysis VIII. Book of abstracts, Edinburgh. PG 1. 1993. P.24-26
53. Safarikova M., Safarik I. The use of copper phthalocyanine dye immobilized on magnetic carriers for the isolation of planar organic compounds. // *Экологическая химия*. 1996. Т.5, № 3. С.205-209.
54. Редькин Ю.Р., Войтенко А.М., Тепляков П.А. Определение ПАУ в морских организмах // *Океанология*. 1973. Т.13. С.908-912.
55. Костюк И.О., Крылов А.И. Определение полиароматических углеводородов в образцах почвы и донных отложений // *Журн. аналит. химии*. 1995. Т.50. С.552-557.
56. Hagatsu H. Cellulose beaving covalently linked copper phthalocyanine trisulphonate as an adsorbent selective for polycyclic compounds and its use in studies of environ-

- mental mutagens and carcinogens // J. chromatogr. 1992. V.597. P.37-56.
57. Potential of micelle-mediated procedures in the sample preparation steps for the determination of PAH in waters / Garcia A.I., Gonzales E.B., Alonso J.I.G., Sanz-Medel A. // Anal. Chim. Acta. 1992. V.264, № 2, P.241-248.
58. Determination of PAHs in fish tissue / Lebo J.A., Zajicek J.L., Schwartz T.R., Smith L.M., Beasley M.P. // J. Assoc. Off. Anal. Chem. 1991. V.74. P.538-544.
59. Raber B., Kögel-Knabner I., Stein C., Klem D. Partitioning of PAHs to dissolved organic matter from different soils // Chemosphere. 1998. V.36, № 1. P.79-97.
60. Sirimanne S.R., Barr J.R., Patterson D.I. Quantification of PAHs and PCDDs in human serum by combined micelle-mediated extraction and HPLC // Anal. Chem. 1996. V.68, P.1556-1560.
61. Blamer M., Beumer W., Reich T. PAHs in soils of a mountain valley: correlation with highway traffic and cancer incidence // Environ. Sci. Technol., 1977, V. 11, p. 1082-1084.
62. Hegeman W.J.M., Van der Weijden C.H., Loch J.P.G. Sorption of benzo[a]pyrene and phenanthrene on suspended harbor sediment // Environ. Sci. Technol., 1995. V.29. P.363-371.
63. Karimi-Lotfabad S., Pickard M.A., Gray M.R. Reactions of PAHs on soil // Environ. Sci. Technol. 1996. V.30. P.1145-1151.
64. Lee M.L., Liu Yu. Solid-phase microextraction of PAHs from aqueous samples using fibers coated // Anal. Chem. 1997. V.69. P.5001-5005.
65. Survival of PAHs during diesel combustion / Tancell P.J., Rhead M.M., Pemberton R.D., Braven J. // Environ. Sci. Technol. 1995. V.29. P.2871-2876.
66. Karimi-Lotfabad S., Picard M.A., Gray M.R. Reactions of polynuclear hydrocarbons on soil // Environ. Sci. Technol. 1996. V.30. P.1145-1151.
67. Van Brummelen T.C., Van Straalen N.M. Uptake and elimination of benzo[a]pyrene in the terrestrial isopod *Porocellio scalaris* // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 1996. V.31. P.277-285.
68. Barwedel J. Fate of PAHs in controlled ecosystem enclosures / Lee R.F., Gardner W.S., Anderson J.W., Blaylock J.W. // Environ. Sci. Technol. 1978. V.12. P.832-838.
69. Occurrence and distribution of PAHs in an agricultural ecosystem / Martens D., Maguhn J., Spitzner P., Kettrup A. // Fres. J. Anal. Chem. 1997. V.359. P.546-554.
70. Bartle K.D., Lee M.L., Wise S.A. Modern analytical methods for environmental PAHs // Chem. Soc. Revs., 1981. V.10. P.113-158.
71. Improved method for determination of PAHs in paraffin and mineral oils / Greahchan A., Le Gren I., Chambon P., Chambon R. // J. Assoc. Off. Anal. Chem. 1991. V.74. P.968-973.
72. Tan Y.L. Analysis of PAHs in shale oil and diesel particulates // Anal. Lett. 1988. V.21, № 4. P.553-562.
73. Developments in the supercritical fluid extraction of PAH from environmental matrix / Kanagasapathy V.M., Bill R.W., Yana P., Allan L., Au L., Parmar J., Lusis M.A., Chapman R.E. // J. Chromatogr. Sci. 1995. V.33, № 8. P.467-474.
74. Risner C.H. The determination of benzo[a]pyrene in the total particulate matter of cigarette smoke // J. Chromatogr. Sci. 1988. V.26, № 3. P.113-120.
75. Karla-ganis Organic micropollutants in Swiss sewage sludge / Frost P., Camenzind R., Margert A., Bonjoue R. // J. Chromatogr. 1993. V.643. № 1/2. P.379-388.
76. Wade T.L., Kennicutt II M.S., Brooks J. PAHs concentration in organisms sediments and water // Marine Environ. Res. 1989. V.27. P.19-30.
77. Ashraf-Khorassani M., Combs M.T., Taylor L.T. Effect of moisture on supercritical fluid extraction of polynuclear aromatic hydrocarbons and phenols from soil using an automatic extractor // J. High. Resol. Chromatogr. 1995. V.18, № 11. P.709-712.
78. King M.B., Bott T.R. Extraction of natural products using near-critical solvents. Blackie Academic & Professional. Glasgow. 1993. 231 p.
79. Яшин Я.И. Аналитические возможности хроматографической аппаратуры Дзержинского ОКБ НПО "Химвтоматика" // Журн. аналит. химии. 1992. Т.47, № 8. С.1516-1524.
80. Heo G.S., Suh J.K. New on-line concentrator for LG-GC: Analysis of PAHs with LG-GC // J. High Resolut. Chromatogr. 1990. V.13, № 8. C.748-753.
81. Study of the fates and effects of the Exxon Valdez oil spill on Benthic sediments in two Bays in Alaska / Boehm P.D., Page D.S., Gilfillan E.S., Bence A.E., Burns A., Mankiewicz P.J. // Environ. Sci. Technol. 1998. V.32. P.567-576.
82. Villanueva J., Rosell A., Grimalt J. Chemical characterization of PAHs mixtures in uncontrolled hazardous waste dumps // Chemosphere. 1991. V. 29, № 3-4. P.317-328.
83. Rapid method for the simultaneous extraction and enrichment of PCDDs/PCDFs and PAH in lipophilic natural matrices / Soboleva E.I., Soyfer V.S., Korotkov M.G., Klyuev N.A. // 3-rd Internat. Symposium TOCOEN. Abstracts, Luhacovice, Czech Republic. 1996. P.275-279.
84. Определение содержания бенз[а]пирена в пищевых продуктах / Сойфер В.С., Коротков М.Г., Чуранова Т.С., Соболева Е.И., Мир-Кадырова Е.Я., Ключев Н.А. // Экологическая химия. 1997. Т.6, № 3. С.191-195.
85. New clean-up procedure for determining PCDDs and PCDFs in lipophilic matrices / Soboleva E.I., Soyfer V.S., Mir-Kadyrova E. Ya., Brodsky E.S., Feshin D.B., Klyuev N.A., Polyakov N.S., Petukhova G.A. // Int. J. Environ. Anal. Chem. 1997. V.68, № 4, P.511-522.
86. Подготовка проб для определения ПХДД и ПХДФ

- в объектах окружающей среды с использованием модифицированной колонки / Соيفер В.С., Соболева Е.И., Бродский Е.С., Ключев Н.А. // Журн. аналит. химии. 1995. Т.50. С.262-266.
87. Bonzige M., Pichon V., Hennion M.C. On-line coupling of PAHs immusorbent and LG analysis for selective extraction // J. Chromatogr. A. 1998. V.823. P.197-210.
88. Menichini E., Monfredini F. A field comparison of "total suspended particles" and "PM₁₀" air samples in collecting polycyclic aromatic hydrocarbons // Intern. J. Environ. Anal. Chem. 1995. V.61. P.299-307.
89. Chromatographic evaluation of some selected PAHs of coal tars / Dominguez A., Alvarez R., Blanco G.G., Diez M.A. // J. Chromatogr. A. 1996. V.719. P.181-194.
90. Sturaro A., Parvoli G., Doratti L. Plane tree bark as a passive sampler of PAHs in urban environment // J. Chromatogr. 1993. V.643, № 1-2. P.435-438.
91. Liu K., Dickhut R.M., Surface microlayer enrichment of PAHs in Southern Chesapeake Bay // Environ. Sci. Technol. 1997. V.31. P.2777-2878.
92. Evaluation of liquid-liquid extraction and liquid-solid extraction with a new sorbent for determination of PAHs in raw and finished drinking waters / Fernandez M.J., Garcia C., Garcia-Villanova R.J., Gomez J.A. // J. Agric. Food Chem., 1996. V.44. P. 785-1789.
93. Walling J.F., Doughtrey E.H. Changes in PAH content of atmospheric particulate monitoring using fuzzified chromatograms // Chemosphere. 1991. V.22. P.1103-1112.
94. Liberti A., Cartoni G.P., Cantuni V. PAHs synthesis, properties, analytical measurements // J. Chromatogr. 1964. V.15. P.141-148.
95. Chromatographic separation of a mixture of PAHs with gradient elution / Mernd E., Gennaro M.C., Baiocchi C., Bertolo P.L. // Anal. Chim. Acta, 1992, V. 258, p. 93-97.
96. Berset J.D., Holser R., Häni H. Solving coelution problems on a smectic-liquid crystalline polysiloxane capillary column for the determination of PAHs. // J. Chromatogr. A. 1998. V. 823. P.179-187.
97. The "Priority pollutants" analysis of water / Lautamo R.M.A., Decker D., Jennings W., Mehran M. // Chromatographia. 1992. V.34, № 5-8. P.331-334.
98. Aceves M., Grimelt J.O. Gas chromatographic screening of organic compounds in urban aerosol. // J. Chromatogr. A. 1993. V.655, № 1. P.133-140.
99. Ramos L.S., Prohaska P.G. Sephadex LH-20 chromatography of extracts of marine sediment and biological samples for the isolation of PAHs // J. Chromatogr. 1081. V.211. P.284-289.
100. Sadtler. The Sadtler standard gas chromatography retention index library. 1986. V.4. 768 c.
101. Баффингтон Р., Уилсон М. Детекторы для газовой хроматографии. М.: Мир, 1993. 79 с. (R. Buffington, M.K. Wilson. Detektoren für die Gaschromatographie. Hewlett-Packard. 1987)
102. Analysis and fate aliphatic hydrocarbons, linear alkybenzenes, PCBs and PAHs in sewage sludge amended soils / Mangas E., Vaquero M.T., Comellas L., Broto-Puig F. // Chemosphere. 1998. V. 36, № 1. P.61-72.
103. Shalliker R.A., Broyles B.S., Guiochon G. Visualization of solute migration in LC columns // J. Chromatogr. A. 1998. V.826. P.1-13.
104. On-road emissions of particular PAHs and black carbon from gasoline / Migull A.N., Kirchstetter T.W., Harley R.A., Hering S.V. // Environ. Sci. Technol. 1998. V.32. P.450-455.
105. Koebar R., Niessne R., Bayona J.M. Comparison of LC-MS interfaces for analysis of polar metabolites of benzo[a]pyrene // Fres. J. Anal. Chem. 1997. V.359. P.267-273.
106. Popp P., Keil P., Möder M., Paschk A., Thuss V. Application of accelerated solvent extraction followed by gas chromatography, HPLC and GC-MS for the determination of PAHs // J. Chromatogr. A. 1997. V.774. P.203-211.
107. Abo-Alla H., Aly M.A. Isolation of petroleum and chlorinated hydrocarbons from the same extract // Toxicol Environ. Chem. 1994. V.44, № 3-4. P.129-135.
108. Aggün F., Demirci A., Özcimder M. LC method for the determination of benzo[a]pyrene in filter tar // J. Agric. Food. Chem. 1996. V.44. P.1488-1490.
109. Bengard A., Colmsjö A., Landmark B.-O. PAHs with relative molecular masses exceeding 328 // J. Chromatogr. 1993. V.630. P.287-295.
110. Biodegradation of benzo[a]pyrene and naphthalene / Szulc M., Kolwzan B., Moskal J., Pawlaczyk-Szpilowa M. // Environ. Protect. Engineer. 1993. V.19, № 1-4, P.78-87.
111. An automated HPLC separation method with two coupled columns for analysis of PCDD/Fs and PAHs / Zebuhr Y., Haf C., Bandh C., Broman D., Ishag R., Pettersen H. // Chemosphere. 1993. V. 27, № 7. P.1211-1219.
112. Костюковский Я.Л., Меламед Д.Б. Функциональный микроанализ хромато-масс-спектрометрическими методами // Журн. аналит. химии. 1983. Т.44, № 2. С. 338-363.
113. Введение в микромасштабную высокоэффективную жидкостную хроматографию. (Под ред. Д.Исии) М.: Мир. 1991. 240 с. [Introduction to Microscale High-Performance Liquid Chromatography. (Ed. D. Ishii). VCH Publishers, 1988]
114. Brown M.A., Stephens R.D., Kim I.S. LC-MS – a new window for environmental analysis // Trends Anal. Chem. 1991. V. 10, №10. P. 330-336.
115. Wittkamp B.L., Hawthorne S.B. Determination of aromatic compounds in water by solid phase microextraction and ultraviolet absorption // Anal. Chem. 1997. V.69. P.1197-1203.
116. Evaluation of intra and interindividual variation of urinary 1-hydroxypyrene, a biomarker of exposure to PAHs / Siwinska E., Mielzynska D., Smolik E., Bubak A., Kwapulinsky J. // Sci. Total Environ. 1998. V.217. P.175-183.

117. Карасек Ф., Клемент Р. Введение в хромато-масс-спектрометрию. М.: Мир. 1993. 237 с.
118. Бродский Е.С., Ключев Н.А. Определение органических загрязнений окружающей среды с помощью сочетания газовой хроматографии и масс-спектрометрии // Журн. эколог. химии. 1993. Т.3. С.49-58.
119. Хмельницкий Р.А., Бродский Е.С. Масс-спектрометрия загрязнений окружающей среды. М.: Химия. 1990. 184 с.
120. Doubly charged ion mass spectra. 2. Aromatic hydrocarbons / Mathur B.P., Burgess E.M., Bostwick D.E., Moran T.F. // Organic mass spectrometry. 1981. V.16, № 2. P.92-98.
121. Каталог сокращенных масс-спектров / Под ред. С. Колгина. Новосибирск: Наука. 1981. 187 с.
122. Хмельницкий Р.А., Бродский Р.А. Хромато-масс-спектрометрия. М.: Химия. 1984. 216 с.
123. Direct determination of isomeric PAHs in environmental samples by conventional and laser excited Shpol'skii spectroscopy / Kozin I.S., Gooijer C., Veltorst N.M., Harmsen J., Wieggers R. // Int. J. Environ. Anal. Chem. 1995. V.61, № 4. P.285-297.
124. Нурмухаметов Р.Н. Поглощение и люминесценция ароматических соединений. М.: Химия. 1971. 172 с.
125. Nikiforova Y.M., Kozin I.S., Tsird K. Peculiarities of contamination of urban soils by PAHs in relation to furnace heating Eurasian soil // Sci. 1993. V. 25. P.66-81
126. Справочное пособие по методам индикации токсичных химических веществ в объектах окружающей среды и продуктах питания. Минздрав СССР. Москва. 1990. С.70-77.
127. Милукайте А.А., Ника А.К., Юозефайте В.А. Закономерности распределения нелетучих органических соединений и углерода в атмосферном аэрозоле // Журн. эколог. химии. 1992. Т.2. С.71-74.
128. Biodegradation of [¹⁴C] benzo[a]pyrene added in crude oil to uncontaminated soil / Kanaly R., Bartha R., Fogel S., Findlay M. // Appl. Environ. Microbiol. 1997. V.63, № 11. P.4511-4515.
129. Goodijer C., van de Nesse R.J., Mank A.J.G, Arieze F., Brinkman U.A.Th., Velthorst N.M. Euroanalysis VIII. Book of abstracts. Edinburg. LE 1. 1993. P. 94-98.
130. Niessner R., Panne U. Euroanalysis VIII. Book of abstracts. Edinburg. LA 3. 1993. P.46-50.
131. Lopez de Alda Villaizan M. J., Simal Lozano J., Lage Yusty M.A. Determination of PAHs in drinking and surface waters from Galicia (N.W. Spain) by constant-wave length synchronous spectrofluorimetry // Talanta. 1995. V.42, P.967-970.
132. Miesenecker K., Knopp D., Niessner R. Euroanalysis VIII. Book of abstracts. Edinburg LQ 2. 1993. P.63-68.
133. Microwave-assisted solvent extraction – a new method for isolation of PAH from plants / Tomaniova M., Hajšlova J., Pavelka Jr., Kocourek V., Klimova I. // J. Chromatogr. A. 1998. V.827. P.21-29.

* * * * *